Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. Selter

Über die Säurespaltung von Glucose, Saccharose und Lactose durch Bact. coli des normalen Säuglingsstuhls. Quantitative Bestimmung der hierbei gebildeten Säuremengen.

Inaugural - Dissertation

zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn.

Vorgelegt am 25. Oktober 1939

von

Günther Hahn
aus Leichlingen (Rhl.),

BONN 1939

Druckerei J. Duckwitz, Bonn, Maargasse 4

Gedruckt mit Genehmigung

der medizinischen Fakultät der Universität Bonn.

Referent Dr. med. Nagel i. V. für Prof. Dr. Selter.

Korreferent: Professor Dr. Tiemann.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

In der vorliegenden Arbeit wurde die Säurespaltung von Glucose, Saccharose und Lactose durch Bact. coli-Stämme, die aus normalen Säuglingsstühlen reingezüchtet wurden, in vitro untersucht. Hierbei wurden die bei der Kohlehydratspaltung gebildeten Säuremengen quantitativ bestimmt.

I. Allgemeiner Teil:

Im Jahre 1886 beschrieb als erster Escherich das Bact. coli, das er als Bact. coli commune bezeichnete, da es sowohl im Darminhalt von Kindern als auch von Erwachsenen regelmäßig vorkommt. Es ist ein kurzes plumpes Stäbchen, 2—5 μ lang, 0,4—0,6 μ breit; es kommen jedoch auch andere Formen vor, so kokkenähnliche oder solche mit Fadenbildung, die besonders bei älteren Kulturen oder bei Verwendung älterer Nährböden beobachtet werden.

Nach Gram färbt es sich stets negativ.

Es bildet nie Sporen.

In seiner Beweglichkeit schwankt das Bact. coli sehr stark. Tavel und Lanz fanden im Jahre 1894 bei ihren Untersuchungen von 30 Colistämmen 13 unbewegliche und 17 bewegliche. Jaffé fand 1912 ein ähnliches Verhältnis. Staberow beobachtete von 22 rotwachsenden Stämmen 13 bewegliche und 9 unbewegliche. Es muß jedoch beachtet werden, daß bei der Untersuchung immer junge Kulturen genommen werden, da bei älteren oft erst nach mehrmaliger Umzüchtung Eigenbewegung auftritt. Es steht wohl eindeutig fest, daß es sowohl lebhaft bewegliche als auch völlig unbewegliche Colibakterien gibt.

Entsprechend der Beweglichkeit sind 4—8 Geißeln beobachtet worden, die peritrich angeordnet sind.

Das Bact. coli wächst unter aeroben und anaeroben Bedingungen; unter aeroben jedoch bedeutend üppiger. An den Nährboden stellt es keine großen Ansprüche. Auf Agar bildet es große, runde, flachgewölbte Kolonien von meist glatter, glänzender oder auch stumpfer Oberfläche.

Verflüssigung von Gelatine tritt nie ein. Trotz der Ansicht einiger Autoren, wie Jaffé, die einige Gelatine verflüssigende Stämme festgestellt haben wollen, steht die Nichtverflüssigung von Gelatine als untrügliches Unterscheidungsmerkmal fest. Das Bact. coli bildet auf Gelatine kleine oder größere, flache, weinblattartige Kolonien. In Bouillon tritt eine gleichmäßige kräftige Trübung ein.

Über das Verhalten Kohlehydraten gegenüber wird später noch ausführlicher berichtet werden.

Auf Fette und Fettsäuren hat das Bact. coli keinen Einfluß.

Ebenso wird natives Eiweiß nicht angegriffen.

Eine große Bedeutung für die Abtrennung von der Typhus-Paratyphus-Gruppe hat die Ehrlich'sche Indolreaktion erlangt, die 1900 von Pröscher als Harnreaktion angegeben wurde. Die Fähigkeit, Pepton zu Tryptophan abzubauen und aus diesem das Indol abzuspalten, besitzen außer dem Bact. coli nur Ruhrbakterien und ruhrähnliche Keime, jedoch nicht die Typhus-Paratyphus-Gruppe. Nachweisbar ist das Indol durch Ehrlichs Reagens (Nitroprussidnatrium), das intensive Rotfärbung bewirkt. Durch Anwesenheit von nur geringer Menge Traubenzucker kann die Indolbildung stark gehemmt werden, wie Kruse 1910 festgestellt hat. Als geeigneten Nährboden zur Darstellung dieser Reaktion gibt Neißer die Trypsin-Pepton-Bouillon an.

Eine weitere Möglichkeit zur Differenzierung der Colibakterien, besonders gegenüber dem Bact. aerogenes, bieten die Methylrotprobe nach Clark und Lubs sowie die Voges-Proskauer'sche Reaktion.

Bei der Methylrotprobe wird das Verhältnis der CO_3^{--}-Ionen zu den H^+-Ionen bei dem in Traubenzuckerbouillon durch Bakterien gebildeten Gasgemisch bestimmt. Das Gasgemisch, das durch Colibakterien erzeugt wird, besteht nach 5tägiger Einwirkung aus etwa gleichen Teilen CO_3^{--}- und H^+-Ionen, reagiert mithin gegen Methylrot sauer. Diese Wasserstoffionenkonzentration wird kolorimetrisch mit Methylrot dargestellt, ein Indikator, der im sauren Medium bei pH = 5,4 Rotfärbung ergibt.

Die Voges-Proskauer'sche Reaktion beruht auf der Bildung von Azethyl-Methyl-Karbinol. Durch Zusatz von Alkali zu einer Bouillonkultur tritt bei positivem Ausfall, also Bildung von Azethyl-Methyl-Karbinol, eine eosinrote Färbung ein. West (1909) wies nach, daß Bact. coli eine negative Reaktion bedingt.

Ein Teil der Colistämme besitzt die Fähigkeit der Hämolyse. Beziehungen zur Pathogenität ließen sich nicht feststellen, da pathogene und nicht pathogene Colibakterien sich durch Hämolyse nicht unterscheiden.

Das serologische Verhalten der Colibakterien ist nicht so einheitlich wie das anderer Parasiten, z. B. des Typhusbazillus. Conradi und Bierast gelangten zu dem Ergebnis, daß die Anwendung der Agglutinationsmethode zur Identifizierung der Coligruppe ungeeignet ist, da ein mit einem Colistamm hergestelltes Antiserum wohl meist den homologen Stamm agglutiniert, dagegen Colistämmen anderer Herkunft gegenüber sich ungleichmäßig verhält. Außerdem enthält das Serum Gesunder häufig Normalagglutinine gegen Coli.

Die Widerstandsfähigkeit des Bact. coli ist recht groß. Durch chemische Mittel wird es im Gegensatz zu anderen Bakterienarten erst spät zum Absterben gebracht. Nach Versuchen von Scheer im Jahre 1922 wird bei einem pH-Wert von 4,6 im sauren Medium das Bact. coli innerhalb von 24 Stunden abgetötet, im alkalischen bei einem solchen von 9,4. Im Hungerzustand ist die Lebensdauer ebenfalls recht groß. Busson (1911) beobachtete, daß noch nach 6¾ Jahren Colikeime, die er in steriles Wasser verimpft hatte, zurückgewonnen werden konnten, ohne daß sie eines der ihnen seinerzeit eigenen Stammerkmale verloren hatten.

Sehr umstritten ist anfänglich die Angabe gewesen, daß Colibakterien als Ursache von verschiedenen Krankheiten angesehen wurden. Heute kann jedoch die ätiologische Bedeutung nicht mehr angezweifelt werden. Häufig fand man das Bact. coli, teils als normalen Typ, teils als Paracoli, als Erreger von

Erkrankungen der Gallenwege, des Urogenitalapparates, von Enteritiden und Dyspepsien der Säuglinge. Auch soll das Bact. coli die Fähigkeit haben, Nahrungsmittelvergiftungen hervorzurufen, wie Fleisch-, Fisch-, Molluskenvergiftungen. Haibe fand 1911 nach dem Genuß einer Fleischpastete Darmerkrankungen auftreten, die durch einen Colistamm hervorgerufen worden waren, der für gewöhnliche Laboratoriumsversuchstiere, insbesondere weiße Mäuse, pathogen war.

Zur Frage der charakteristischen Besiedlung des Dünndarms mit Colikeimen bei der Säuglingsdyspepsie durch Aufwärtswanderung der Bakterien in sonst colifreie Darmabschnitte haben sich verschiedene Autoren geäußert. Bernheim-Karrer erzielten im Tierversuch Dünndarmschädigungen mit Durchfällen und Coliascension durch Verfütterung von Kuhmilch und Gaben von Diphtheriegift. Löwenberg stellte im Duodenalsaft ein Fehlen von bactericiden Stoffen Colikeimen gegenüber fest, was nach seiner Meinung ein Aufwärtswandern der Keime bewirkt. Für eine Einschleppung der Keime durch künstliche Ernährung sprechen sich dagegen Plonsker und Rosenbaum aus.

Adam untersuchte die bei Dyspepsiekranken in Magen und Dünndarm gefundenen Colikeime genauer und hat gewisse Abweichungen in kultureller und biochemischer Beziehung zu normalen Colitypen beobachtet. Er hält eine Abgrenzung als „Dyspepsiecoli"-Sondergruppe für gerechtfertigt.

Eine außerordentliche Verbreitung des Bact. coli stellte man auch außerhalb des Organismus fest. Oft enthalten ungekochte Nahrungsmittel wie Obst, Salat, Butter, Käse diese Keime. Ressel fand 1908 bei seinen Untersuchungen an 41 von 72 Gemüse- und Obstarten das Bact. coli.

II. Spezieller Teil.

Das Kohlehydratspaltungsvermögen des Bact. coli.

Eingehende Untersuchungen sind bereits über das Verhalten der Colibakterien Kohlehydraten gegenüber angestellt worden, insbesondere im Hinblick auf ihre differentialdiagnostische Bedeutung. Es dient der Unterscheidung normaler und atypischer Coliarten sowie zur Abgrenzung von der Typhus-Paratyphus-Gruppe. Es ist zu unterscheiden zwischen dem Säurebildungsvermögen und dem Gasbildungsvermögen. Ersteres wird in flüssigen Nährböden nachgewiesen, das Gasbildungsvermögen wird in Gärröhrchen mit Nährbouillon und unter Zusatz des zu untersuchenden Zuckers dargestellt.

Schon 1895 hatte Escherich für das Bact. coli die Fähigkeit gefordert, aus Glucose und Lactose Gas und Säure zu bilden. Regelmäßig trifft dies auch zu für Lävulose und Maltose, während Saccharose teils gespalten, teils nicht gespalten wird.

Traubenzucker wird in ein Gemisch von Säuren, ferner Alkohole und die Gase CO_2 und H_2 gespalten. Die gleichen Produkte vermag das Bact. coli auch aus Milchzucker zu bilden, jedoch ist hier weniger die Gasbildung als vielmehr die Säurebildung von Interesse. Die Gasbildung aus Traubenzucker und die Säurebildung aus Milchzucker ist neben anderen schon erwähnten Merkmalen ein typisches Zeichen für die Gattung Echerichia. Hajna (1937) untersuchte 129 Stämme der Gattung Escherichia auf ihr Gasbildungsvermögen aus Kohlehydraten. Er fand, daß bei gut gepufferten Nährböden bei 46° Gas gebildet wurde, je nach dem Zucker mehr oder weniger.

Das Vermögen des Bact. coli, aus Milchzucker Säure zu bilden, ist die Veranlassung zu eingehenden Untersuchungen gewesen.

Gilbert prägte 1895 den Begriff „Paracoli"-Bazillen, zu welchen er diejenigen rechnete, die nicht alle typischen Merkmale des

Bact. coli commune zeigten, in der Hauptsache die, die den Milchzucker nicht spalteten. Andere Autoren bezeichneten Stämme, die Glucose und Saccharose zu spalten vermögen, aber Lactose unbeeinflußt lassen als „Intermediuskeime", „Blaukeime" oder „Coli imperfectum". Standfuß schlug 1929 den Namen „Intermediuskeime" vor, da diese Gruppe von Colistämmen gewissermaßen zwischen den Coli- und Paratyphus-Enteritis-Bakterien steht. Burri (1910) bezeichnete als „Coli imperfectum" Vertreter der Coligruppe, die Lactose und Saccharose nicht zu spalten vermögen, aber durch Züchtung auf saccharosehaltigen Nährböden in entschiedene Saccharosevergärer übergehen.

Györgi fand 1920 bei seinen Versuchen 52 Colistämme, die aus Milchzucker keine Säure bildeten; diese sah er entsprechend als Paracoli an. Er verwendete bei diesen Untersuchungen feste Nährböden und beobachtete die Stämme nur wenige Tage. Es muß jedoch unterschieden werden zwischen festen und flüssigen Lactose-Nährböden, da der Zucker in letzteren für die Colibakterien in reichlicherem Maße angreifbar ist, und aus diesem Grunde auch die Ausnutzung eine größere sein muß.

Kristensen, Bojlén und Kjaer beobachteten im Jahre 1935, daß Colibakterien, die auf festen Nährböden aus Lactose keine Säure zu bilden vermochten, im Gegensatz hierzu jedoch Lactose in flüssigen Nährmedien spalteten; eine erhebliche Zahl von Colistämmen vermochte dies allerdings erst nach einigen Tagen.

Es ist mithin unerläßlich zur Feststellung des Lactose-Spaltungsvermögens, flüssige Nährböden zu verwenden und die Beobachtungszeit nicht zu kurz zu bemessen.

Staberow (1938) lehnt den Begriff „Paracoli" mit der Begründung ab, daß die unter dieser Bezeichnung von den verschiedensten Autoren aufgeführten Keime eine große Unstimmigkeit untereinander aufweisen, und daß sie daher nicht unter einem eindeutigen Begriff, wie „Paracoli", zusammengefaßt werden können. Er schlägt für diese Stämme die Bezeichnung „fermentschwache"

Colibakterien vor, „da einerseits die Eigenschaft, Lactose zu spalten, bei diesen Keimen nur als labiler Phänotyp zu werten ist, der bei geeigneten Untersuchungsmethoden mit großer Regelmäßigkeit nachgewiesen werden kann; andrerseits dürfte die Bezeichnung „fermentschwach" am ehesten für den nicht speziell bakteriologisch arbeitenden Kliniker in bezug auf die bekannten Milchzuckernährböden am eindeutigsten sein". Er faßt also als „fermentschwache" Colistämme diejenigen auf, die den Anforderungen der Gattung Escherichia entsprechen, außer daß sie Lactose in flüssigen Nährböden und verspätet spalten.

Die Bildung von Säure aus Saccharose wurde für einen Teil von Colibakterien festgestellt, ohne daß jedoch, wie Prell beobachtete, eine Abhängigkeit zwischen Milchzucker- und Saccharose-Vergärern besteht. Einen differentialdiagnostischen Wert besitzt das Säurebildungsvermögen aus Saccharose jedoch nicht. Durham bezeichnete 1901 Colibakterien, die Glucose, Lactose und Saccharose spalten, als „Bact. coli communior". Auch längere Züchtung bewirkt keine Säurebildung aus Saccharose.

Zur Differenzierung von verschiedenen Coliarten durch Kohlehydratspaltung zogen Castellani und Chalmers folgende Zucker und Alkohole heran: Dextrose, Saccharose, Lactose, Maltose, Inosit, Adonit, Dulcit und das Glykosid Salizin; Haupt untersuchte das Spaltungsvermögen an Saccharose, Dulcit und Salizin, während für Bergey das Verhalten gegenüber Saccharose, Lactose und Dextrose maßgebend war. Staberow prüfte das Gasbildungsvermögen von 22 mit Fuchsinglanz wachsenden Stämmen in Agarschüttelkulturen unter Zusatz von jeweils 1% Glucose, Lävulose, Galactose, Saccharose, Lactose und Maltose. Das Säurebildungsvermögen wurde geprüft an Glucose, Lactose, Saccharose, Maltose, Galactose, Lävulose, Raffinose, Arabinose, Rhamnose, Xylose, Glycerin, Dextrin, Mannit, Sorbit, Dulcit, Adonit und Salizin. Staberow faßte seine Ergebnisse über das Spaltungsvermögen dieser Kohlehydrate und Alkohole in folgender Tabelle zusammen:

Es waren gegenüber	nach 1 Tag		8 Tagen		21 Tagen	
	+	—	+	—	+	—
Glucose	22	0	22	0	22	0
Lactose	22	0	22	0	22	0
Galactose	22	0	22	0	22	0
Lävulose	22	0	22	0	22	0
Arabinose	22	0	22	0	22	0
Mannit	22	0	22	0	22	0
Saccharose	10	12	10	12	14	8
Maltose	19	3	21	1	22	0
Rhamnose	15	7	21	1	22	0
Xylose	7	15	22	0	22	0
Sorbit	3	19	10	12	20	2
Dulcit	0	22	2	20	12	10
Adonit	0	22	4	18	4	18
Raffinose	3	19	8	14	12	10
Dextrin	6	16	9	13	11	11
Glycerin	3	19	21	1	22	0
Salizin	1	21	10	12	18	4

Staberow suchte die von ihm beobachteten Stämme in die Systeme der vorgenannten Autoren einzuordnen und kam zu dem Schluß, „daß es unmöglich war, in die bestehenden namenmäßig gefaßten Coliarten seine Stämme mit Sicherheit einzufügen, sondern daß es sich hier wahrscheinlich um eine weitgehende Variationsbildung handelt, die je nach Länge der Beobachtungszeit einer Einordnung unter die bis jetzt aufgestellten Arten anheimfallen könnte".

Bei allen diesen Kohlehydratsspaltungs-Versuchen, die in der Literatur angeführt sind, wurde die Säurespaltung in flüssigen Nährmedien qualitativ verfolgt. Es wurde stets mit Hilfe eines Indikators — z. B. bei den Barsiekow-Lösungen mit Bromthymolblau —

die Säurebildung durch Farbumschlag bestimmt. Staberow dehnte dabei die Beobachtungszeit auf 21 Tage aus, weil er glaubte, erst dann eine endgültige Spaltung oder Nichtspaltung der Kohlehydrate feststellen zu können.

Gerber (1938) untersuchte das Milchzuckerspaltungsvermögen von 200 frisch aus menschlichen Stuhlproben und 142 aus Wasserproben isolierten Colistämmen, die er in einer von Reichenbach angegebenen Milchzuckerlösung bei 37° bebrütete. Er versuchte, die Schnelligkeit ihrer fermentativen Spaltungskraft für Lactose durch Messung des Säuerungsgrades der Lösung potentiometrisch mit Hilfe des Lautenschlägerschen Ionometers festzustellen. Dabei zeigte sich, daß die pH bis zum siebten Tag abnahm — also die Säuerung zunahm — bis zu Werten von pH = 5,40. Von dann ab blieben diese Werte konstant.

In der vorliegenden Arbeit sollte nun versucht werden, die bei Kohlehydrat-Spaltungen durch Bact. coli gebildeten Säuremengen quantitativ durch Titration zu bestimmen, um aus der Art und Schnelligkeit der Spaltung Rückschlüsse auf die fermentativen Fähigkeiten der Colibakterien zu ziehen. Es sollte festgestellt werden, ob bei ein und demselben Säugling die aus wiederholten Stuhlproben gezüchteten Colistämme immer dieselbe Säurespaltung einiger Kohlehydrate ergibt.

Um untereinander vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, mußte

1. eine Nährlösung verwendet werden, in der das Bact. coli gut wächst und in der die Kohlehydratspaltung nach bestimmter Bebrütungsdauer durch Titration gut feststellbar war;
2. ein Verfahren gefunden werden, gleichen Mengen an Zukkernährlösung stets eine möglichst gleichbleibende Menge an Colibakterien zuzusetzen;
3. bei allen Untersuchungen durch Anlegen von Kontrollproben, die dieselbe Nährlösung ohne Kohlehydratzusatz enthielten, bestimmt werden, wie stark die Nährlösung

durch die Colistämme im Sinne einer Alkalisierung der Lösung angegriffen wird, und

4. geprüft werden, ob die aus derselben Stuhlprobe nach Reinzüchtung auf einem festen Nährboden gewachsenen Coli-Kolonien alle gleich stark das Kohlehydrat unter Säurebildung spalten, oder ob schon in demselben Stuhl mehrere Colistämme vorhanden sind, die eine verschiedene Säurespaltung der Kohlehydrate ergeben.

III. Experimenteller Teil.

A. Reinzüchtung von Colistämmen aus Stuhlproben.

Die Stuhlproben wurden in 3 Verdünnungen auf eine Endoplatte gebracht, 24 Stunden bei 37° bebrütet. Um eine Mischinfektion mit Proteusbazillen zu vermeiden, erfolgte eine Passage der mit Fuchsinglanz bzw. auf Endo weiß wachsenden Kolonien über eine Blutplatte, die ebenfalls 24 Stunden bebrütet wurde. Schwärmende Stämme wurden von vornherein ausgeschlossen. Nach nochmaliger Passage über eine Endoplatte wurden die mit Fuchsinglanz bzw. weiß wachsenden Kolonien auf einen Fleischwasser-Agar-Schräg-Nährboden überimpft, mindestens 12 Stunden bebrütet und danach auf Bact. coli geprüft:

1. durch nochmalige Abimpfung vom Schrägröhrchen auf eine Blutplatte, um Proteusbazillen auszuschließen;
2. durch Anlegen der „kurzen bunten Reihe". Es wurden nur solche Stämme verwendet, die Gas und Indol bildeten.
3. Die Gattung Aerogenes wurde durch den positiven Ausfall der Clark-Lubs'schen Methylrotprobe und den negativen Ausfall der Voges-Proskauerschen Reaktion ausgeschlossen.

B. Nährlösung.

Als Nährlösung wurde eine 1%ige Witte-Peptonlösung, die auf pH = 7,20 eingestellt worden war, verwendet. Vor der Verwendung wurde die eingestellte Lösung im Dampftopf ½ Stunde sterilisiert,

danach 24 Stunden stehen gelassen und nochmals 20 Minuten in strömendem Wasserdampf sterilisiert.

Für die Kontrollen wurden je 5 ccm dieser Lösung mit einer Vollpipette in ein mit einem Zellstoffstopfen verschlossenes, steriles Reagensglas steril überpipettiert.

Zur Prüfung der Kohlehydrat-Spaltung wurde zu obiger Lösung je 1% Glucose, Saccharose oder Lactose zugesetzt, und ebenfalls je 5 ccm, wie eben angeführt, in ein steriles Reagensröhrchen überpipettiert.

C. Überimpfung der Colibakterien.

Von dem auf dem Fleischwasser-Agar-Schrägröhrchen gewachsenen Coli-Rasen wurde 1 Normal-Platinöse an Colibakterien auf 5 ccm Nährlösung — ohne Kohlehydrat-Zusatz — überimpft, 24 Stunden bei 37° bebrütet, umgeschüttelt und je 0,1 ccm dieser Lösung auf die kohlehydrathaltigen Röhrchen und Kontrollröhrchen steril überimpft. Es wurde auf diese Weise versucht, Colibakterien in möglichst gleicher Verteilung und vor allem gleicher Menge jedem einzelnen Versuchsröhrchen zuzugeben.

Durch die unten angeführten Vorversuche wurde geprüft, ob ein Unterschied in der Säurespaltung festgestellt werden kann, wenn zu jedem Röhrchen verschiedene Mengen an Coli-Peptonlösung zugegeben werden, Es zeigte sich, daß das Endergebnis der Säurespaltung der Kohlehydrate in bestimmten Grenzen unabhängig von der zugegebenen Menge an Colibakterien ist. Es wurde deshalb, wie oben angeführt, in allen Versuchen, außer dem ersten und zweiten Vorversuch, je 0,1 ccm einer 24stündigen bei 37° bebrüteten Coli-Peptonlösung in jedes Röhrchen überimpft.

D. Titration.

Von jeder Kohlehydrat-Art und von den Kontrollen wurden je 3 Röhrchen beimpft, bei 37° bebrütet, und die Säurespaltung in je einem der 3 Röhrchen nach 1, bzw. 3, bzw. 7 Tagen durch Titration bestimmt.

Titrationslösungen:

1. n/25 Natronlauge,
2. n/25 Schwefelsäure,
3. Methylrot-Methylenblau-Mischindikator.

Dieser Indikator wird hergestellt aus 2 Teilen einer 0,2%igen alkoholischen Methylrotlösung und 1 Teil einer 0,1%igen alkoholischen Methylenblaulösung.

Er schlägt bei pH = 5,4 um. Bei pH = 5,2 ist seine Farbe rotviolett, bei pH = 5,4 schmutzig blau, bei pH = 5,6 schmutzig grün.

Titriert wurde stets auf einen grasgrünen Farbton.

Es ist gleichgültig, auf welchen Farbton titriert wird; das Wesentliche ist nur, daß stets derselbe Untersucher die Titration ausführt und denselben Farbumschlagspunkt einhält.

Weil das Bact. coli in einer reinen Peptonlösung alkalisch reagierende Substanzen bildet, muß zu ihrer Neutralisation Säure verbraucht werden. In einer Kohlehydrat-Peptonlösung wird durch Bact. coli aus dem Kohlehydrat — falls es einer Säurespaltung unterliegt — Säure, aus der Peptonlösung werden basisch reagierende Substanzen gebildet. Wenn demnach nach der Kohlehydrat-Spaltung eine bestimmte Säuremenge titrimetrisch bestimmt wird, dann muß zu diesem Wert die Menge an Säure hinzuaddiert werden, die zur Neutralisation der durch Peptonspaltung gebildeten alkalisch reagierenden Stoffe notwendig ist. Es muß also jeder Titrationswert auf den Kontrollwert bezogen werden. Dadurch ist es auch belanglos, welcher Indikator gebraucht wird.

Diese Überlegungen wurden noch untermauert durch Titrationswerte, wie sie bei Saccharose nicht spaltenden Colistämmen gefunden wurden, und wie sie für eine Reihe anderer Kohlehydrate durch die Arbeiten von A. Leinbrock im hiesigen Institut bestimmt wurden. Diese Saccharose-Peptonlösungen ergaben dieselbe Menge an alkalisch reagierenden Stoffen wie die reine Pepton-(Kontroll-)lösung.

Die folgende Tabelle zeigt links die titrierten Werte, rechts die Berechnung:

	Titrierte ccm n/25 NaOH bzw n/25 H_2SO_4 nach			Gebildete Menge n/25 Säure (S) nach		
	1 Tag	3 Tagen	7 Tagen	1 Tag	3 Tagen	7 Tagen
Glucose	1.48 NaOH	1.89 NaOH	1.95 NaOH	2.11 S.	2.93 S.	3.37 S.
Saccharose	0.64 H_2SO_4	1.04 H_2SO_4	1.40 H_2SO_4	keine Säure gebildet		
Lactose	1.26 NaOH	1.50 NaOH	1.54 NaOH	1.89 S.	2.53 S.	2.96 S.
Kontrolle	0.63 H_2SO_4	1.03 H_2SO_4	1.42 H_2SO_4	++		

++ Die Kontrollen ergeben Bildung von 0,63, bzw. 1,03, bzw. 1,42 ccm basische Substanzen.

In den folgenden Tabellen wurden nur die berechneten Mengen an gebildeter Säure bzw. basisch reagierender Substanz angeführt.

Vorversuch I.

Zur Feststellung, ob die aus einer 1%igen Glucose-Peptonlösung gebildete Säuremenge von der Menge der zugesetzten Colibakterien abhängig ist, wurden folgende Versuche angestellt:

A. 1 Öse Colibakterien vom Fleischwasser-Agar-Schrägröhrchen wurde in 5 ccm Peptonlösung überimpft, 4 Stunden bebrütet (von dieser Aufschwemmung wurde 1 Öse, wie unter B angeführt, zum Überimpfen verwendet); danach weitere 20 Stunden, also im Ganzen 24 Stunden bei 37° bebrütet.

B. Von Lösung A wurde 1 Öse der Aufschwemmung nach 4 Stunden Bebrütungsdauer auf 5 ccm Peptonlösung überimpft, und diese 24 Stunden bei 37° bebrütet.

Von Lösung A bzw. B wurden je 0,1, 0,2, 0,3 ccm auf eine 1%ige Glucoselösung bzw. die Kontrollösung überimpft; nach 1, 3, 7tägiger Bebrütungsdauer wurden die Veränderungen nach der sauren bzw. alkalischen Seite hin titrimetrisch bestimmt.

Tabelle 1.

Aus Glucose gebildete ccm n/25 Säure (S.) bzw. aus Pepton gebildete ccm n/25 Basische Stoffe (B.) nach 1, 3, 7 Tagen Bebrütung bei 37° (Doppelbestimmung):

	A						B					
	1 Tag		3 Tagen		7 Tagen		1 Tag		3 Tagen		7 Tagen	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
I. je 0.1 ccm Coli-Peptonlösung zugesetzt												
Gluc. (S)	2.05	2.12	3.16	3.11	3,41	3.39	2.07	2.11	3.07	3.18	3.32	3.33
Kontr. (B)	0.54	0.58	0.91	0.83	1.20	1.18	0.50	0.50	0.87	0.87	1.15	1.12
II. je 0.2 ccm Coli-Peptonlösung zugesetzt												
Gluc. (S)	2.23	2.24	3.08	3.21	3.34	3.38	2.20	2.27	3.19	3.18	3.42	3.45
Kontr. (B)	0.56	0.65	0.82	0.88	1.17	1.18	0.54	0.59	0.87	0.87	1.16	1.18
III. je 0.3 ccm Coli-Peptonlösung zugesetzt												
Gluc. (S)	2.26	2.24	3.21	3.06	3.46	3.47	2.12	2.11	3.32	3.22	3.51	3.38
Kontr. (B)	0.57	0.56	0.90	0.91	1.24	1.30	0.58	0.52	0.97	0.89	1.24	1.10

Ergebnis: Aus dem Versuch geht hervor:

1. Daß Glucose durch Colibakterien unter Säurebildung, die Kontrolle (Peptonlösung) unter Bildung basischer Substanzen gespalten werden. Diese Spaltung ist in den ersten 24 Stunden am stärksten, steigt noch erheblich bis zum dritten Tage an, um dann bis zum siebten Tag nur noch wenig anzusteigen.

2. Die sowohl durch Versuchsanordnung A wie B bestimmten Säurewerte stimmen gut überein.

3. Es ist belanglos, ob 0,1, 0,2 oder 0,3 ccm einer Coli-Peptonlösung zu einer Glucoselösung zugesetzt werden. In allen diesen Fällen wird die gleiche Menge Säure gebildet. Ein geringer Unterschied ist — wie die Tabelle zeigt — bei Überimpfung von 0,1 ccm nach 24stündiger Bebrütung gegenüber der Überimpfung von 0,2 bzw. 0,3 ccm Coli-Peptonlösung erkennbar; nach 3 Tagen, erst recht nach 7 Tagen sind diese Unterschiede ausgeglichen.

Vorversuch II.

Um Zufälle auszuschließen, die durch die Anwendung nur eines einzigen Colistammes auftreten könnten, wurde der Vorversuch I mit Colistämmen aus 3 Kinderstühlen wiederholt, von denen 2 Colistämme aus 2 Stuhlproben (1 und 2) desselben Kindes stammten.

Tabelle 2.

Aus Glucose gebildete ccm n/25 Säure (S.) bzw. aus Pepton gebildete ccm n/25 Basische Stoffe (B.) nach 1, 3, 7 Tagen Bebrütung bei 37°:

	A			B		
	1 Tag	3 Tagen	7 Tagen	1 Tag	3 Tagen	7 Tagen
1. Stuhlprobe	I. je 0.1 ccm Coli-Peptonlösung zugesetzt					
Glucose (S.)	2.07	2.88	3.59	2.10	2.93	3.49
Kontrolle (B.)	0.62	1.14	1.53	0.62	1.13	1.48
	II. je 0.2 ccm Coli-Peptonlösung zugesetzt					
Glucose (S.)	2.12	2.91	3.53	2.10	2.92	3.48
Kontrolle (B.)	0.64	1.12	1.49	0.62	1.13	1.50
	III. je 0.3 ccm Coli-Peptonlösung zugesetzt					
Glucose (S.)	2.17	2.95	3.52	2.17	2.97	3.57
Kontrolle (B)	0.64	1.14	1.54	0.65	1.14	1.51
2. Stuhlprobe	I. je 0.1 ccm Coli-Peptonlösung zugesetzt					
Glucose (S.)	2.13	3.08	3.42	2.18	3.08	3.42
Kontrolle (B.)	0.63	1.08	1.41	0.63	1.09	1.43
	II. je 0.2 ccm Coli-Peptonlöung zugesetzt					
Glucose (S.)	2.21	3.08	3.42	2.18	3.16	3.40
Kontrolle (B.)	0.61	1.12	1.40	0.70	1.13	1.42
	III. je 0.3 ccm Coli-Peptonlösung zugesetzt					
Glucose (S.)	2.21	3.06	3.38	2.27	3.06	3.40
Kontrolle (B.)	0.62	1.10	1.42	0.68	1.09	1.46
3. Stuhlprobe	I. je 0.1 ccm Coli-Peptonlösung zugesetzt					
Glucose (S.)	1.85	2.65	3.08	1.82	2.73	3.13
Kontrolle (B.)	0.30	0.60	1.04	0.28	0.67	1.08
	II. je 0.2 ccm Coli-Peptonlösung zugesetzt					
Glucose (S.)	1.86	2.65	3.13	1.91	2.68	3.10
Kontrolle (B.)	0.29	0.58	1.05	0.28	0.61	1.03
	III. je 0.3 ccm Coli-Peptonlösung zugesetzt					
Glucose (S.)	1.87	2.73	3.09	1.90	2.79	3.13
Kontrolle (B.)	0.31	0.70	1.02	0.28	0.69	1.11

Ergebnis: Durch Vorversuch II konnten die Versuchsergebnisse von Vorversuch I vollauf bestätigt werden.

Vorversuch III.

In diesem Versuch sollte geprüft werden, ob die auf Endo mit Fuchsinglanz bzw. weiß wachsenden Kolonien reingezüchteter Colistämme desselben Stuhlausstriches Saccharose und Lactose in genau der gleichen Weise angreifen, oder ob Unterschiede der fermentativen Leistungen gegenüber diesen Kohlehydraten schon bei den Kolonien desselben Stuhlausstriches feststellbar waren.

Versuchsanordnung:

Dieselbe Stuhlprobe wurde auf 4 Endo- und Blutplatten in 3 Verdünnungen ausgestrichen und in derselben Weise reingezüchtet, wie im Beginn des experimentellen Teiles angegeben wurde.

Die 4 reingezüchteten Stämme derselben Stuhlprobe wurden auf 4 Endoplatten ausgestrichen, und von jeder Platte 3 mit Fuchsinglanz und 2 weiß wachsende Kolonien auf Fleischwasser-Agar-Schrägröhrchen ausgestrichen, 24 Stunden bei 37° bebrütet; eine Öse des Rasens wurde auf 5 ccm 1%ige Peptonlösung gebracht, nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° C je 0,1 ccm der umgeschüttelten Coli-Aufschwemmung auf je 5 ccm 1%ige Saccharose —, 1%ige Lactose-Peptonlösung und Peptonlösung (Kontrolle) überimpft. Diese wurden 1, 3, 7 Tage bei 37° bebrütet und titriert.

Tabelle 3.

Aus Saccharose bzw. Lactose gebildete ccm n/25 Säure (S.) bzw. aus Pepton gebildete ccm n/25 basische Substanz (B.) nach 1, 3,7 Tagen Bebrütung bei 37°.

E.	K.	Saccharose (S.)						Lactose (S.)						Kontrolle (B.)					
		rot ++			weiß			rot			weiß			rot			weiß		
		1 T	3 T	7 T	1 T	3 T	7 T	1 T	3 T	7 T	1 T	3 T	7 T	1 T	3 T	7 T	1 T	3 T	7 T
I	1	0	0	0	0	0	0	1.95	2.85	2.97	1.77	2.42	3.17	0.65	1.48	1.73	0.43	0.80	1.63
	2	0	0	0	0	0	0	1.77	2.83	2.94	1.75	2.60	3.10	0.53	0.95	1.60	0.46	0.97	1.49
	3	0	0	0				1.87	2.50	3.04				0.50	1.03	1.64			
II	1	0	0	0	0	0	0	1.90	2.67	2.97	0	0	2.92	0.52	1.12	1.55	0.52	0.91	1.37
	2	0	0	0	0	0	0	1.73	2.38	2.98	1.84	2.47	2.99	0.47	0.92	1.55	0.50	0.88	1.39
	3	0	0	0				1.70	2.32	2.95				0.45	0.90	1.49			
III	1	0	0	0	1.11	3.61	3.97	1.82	2.50	2.89	1.84	2.78	3.49	0.49	0.94	1.32	0.43	1.06	1.85
	2	0	0	0	0	0	0	1.81	2.49	2.99	1.95	2.59	3.21	0.50	0.93	1.43	0.50	0.92	1.56
	3	0	0	0				1.98	3.02	3.33				0.48	0.92	1.32			
IV	1	0	0	0	0	0	0	1.79	2.51	3.09	0.08	2.13	2.90	0.49	1.12	1.60	0.55	0.96	1.39
	2	1.95	3.43	3.71	0	0	0	1.89	3.16	3.39	1.83	2.50	3.06	0.54	1.35	1.83	0.45	0.92	1.54
	3	0	0	0				2.01	2.80	2.84				0.70	1.25	1.75			

++ rot = auf Endo mit Fuchsinglanz gewachsen; weiß = auf Endo weiß gewachsen.

Es bedeutet: E. = Endoplatte Nr. K. = Kolonie Nr. T. = Tag.

Ergebnis: Die Tabelle zeigt, daß die Colibakterien der auf Endo rot gewachsenen, aus demselben Stuhl gezüchteten 12 Kolonien Saccharose bis auf Kolonie IV ,2 nicht spalteten. Die Colibakterien von 10 roten Kolonien spalteten dagegen die Lactose, und zwar gleichmäßig stark, so daß die Säurewerte nach 1, 3, 7 Tagen übereinstimmen. Die Kolonien III, 3 und IV, 2 zeigten dagegen stärkere Säurespaltung der Lactose.

7 der auf Endo weiß gewachsenen Kolonien spalteten Saccharose nicht, die achte Kolonie (III, 1) dagegen sehr stark. Dieselbe Kolonie spaltete auch Lactose stärker als alle anderen weiß gewachsenen Kolonien, deren 7-Tagewerte gut übereinstimmen. Die weiße Kolonie II, 1 spaltete Lactose bis zum dritten Tag nicht, am siebten Tag war eine Spaltung vorhanden, die dem 7-Tage-Wert der anderen, sofort Lactose spaltenden weißen Kolonien gleichkam. Auch die weiße Kolonie IV, 1 zeigte bei der Lactosespaltung nach einem Tag eine Hemmung, die nach drei Tagen bereits überwunden war.

Die Peptonlösungen (Kontrollen) wurden von den Colibakterien ziemlich gleichmäßig stark unter Bildung basisch reagierender Substanzen angegriffen, obwohl auch hier Schwankungen zu verzeichnen waren.

Die Bildung von Säure aus den untersuchten Kohlehydraten war in den ersten 24 Stunden zahlenmäßig am größten, stieg weiter bis zum dritten Tag an, um von da ab bis zum siebten Tag nur noch wenig anzuwachsen.

Dieser Versuch zeigt eindeutig, daß im Darm gesunder Säuglinge gleichzeitig Saccharose spaltende bzw .nicht spaltende, auf Endo mit Fuchsinglanz bzw. weiß wachsende Colibakterien enthalten sein müssen. Die fermentative Fähigkeit, Saccharose unter Säurebildung anzugreifen, ist bei den einen Colibakterien vorhanden, bei anderen fehlt sie; der Lactose gegenüber sind die einen Colibakterien fermentaktiver als die anderen.

Hauptversuch.

Die Aufgabe des vorliegenden Versuches war es, von gesunden Säuglingen während eines längeren Zeitraumes möglichst täglich je eine Stuhlprobe zu entnehmen, die darin enthaltenen Colibakterien rein zu züchten und ihre biochemischen Fähigkeiten einigen Kohlehydraten gegenüber in Säurespaltungsversuchen zu prüfen. Es sollte festgestellt werden, ob bei gleichmäßig ernährten Säuglingen die fermentative Fähigkeit, Glucose, Saccharose und Lactose unter Säurespaltung zu spalten oder nicht, bei den aus dem Stuhl gezüchteten, auf Endo mit Fuchsinglanz bzw. weiß wachsenden Kolonien an den verschiedenen Tagen der Stuhlentnahme die gleiche geblieben war, oder ob Änderungen der fermentativen Leistungen feststellbar waren.

Versuchsanordnung:

Von einem Fleischwasser-Agar-Schrägröhrchen wurde je 1 Öse des Colirasens in 5 ccm 1%-iger Peptonlösung überimpft, 24 Stunden bei 37° bebrütet, von der umgeschüttelten Coli-Aufschwemmung je 0,1 ccm auf je 5 ccm 1%ige Glucose-, Saccharose, Lactose-Peptonlösung und auf je 5 ccm Peptonlösung zur Kontrolle überpipettiert, 1, 3, 7 Tage im Brutschrank von 37° gehalten und nach der abgelaufenen Zeitspanne die gebildete Säure bzw. die alkalisch reagierenden Stoffe quantitativ durch Titration bestimmt (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4 folgt im Anhang!

Ergebnis:

Aus den Stuhlproben aller Säuglinge konnten nur in den wenigsten Fällen auf Endo weiß wachsende Colikolonien isoliert werden; nur der Säugling III (I.L.) hatte, wie Tabelle 5 zeigt, in jeder Stuhlprobe weiß wachsende Colikolonien.

Tabelle 5.

Säugling	Anzahl d. Stuhlproben	Gewachsen auf Endo		Alter	Ernährung
		rot	weiß		
I. K.P.	14	14	3	2 1/4 Mon.	Frauenmilch + Halbmilch
II. M.H.	14	14	1	3 Mon.	Halbmilch
III. I.L.	9	9	9	4 1/4 Mon.	3mal Eledon (Säurevollmilch) + 2mal Obst-Gemüse-Brei
IV. H.G.	5	5	2	2 Mon.	Buttermilch + 2mal ½ Milchbrei
V. A.B.	5	5	2	2 Mon.	Buttermilch + 3% Nährzucker
VI. E.S.	5	5	1	1 3/4 Mon.	Frauenmilch + Buttermilch
VII. H.M.	5	5	0	2 3/4 Mon.	Frauenmilch + Halbmilch

Fall III weist auf die Ernährung hin. Vielleicht hängt das Auftreten am Endo häufig weiß wachsender Colikolonien mit der Ernährung zusammen; denn von allen Säuglingen, die teilweise Säuremilch, teils keine gesäuerte Milch als Nahrung erhielten, bekam nur Kind III Obst und Gemüse (Möhren).

Die Glucose wurde von allen Colistämmen, auch den auf Endo weiß wachsenden, stark zu Säure abgebaut; der Abbau war in den ersten 24 Stunden am größten, stieg weiter bis zum dritten Tag, dann bis zum siebten Tag nur noch wenig an. Durch die gebildete Säure, die als Kohlehydrat-Stoffwechsel-Endprodukt der Colibakterien aufzufassen ist, wird wahrscheinlich der fermentative Kohlehydrat-Abbau mit der Zunahme der Säure gehemmt.

Die Colibakterien, die aus den täglichen Stuhlproben desselben Säuglings gezüchtet wurden, zeigten tägliche, wenn auch geringe, Schwankungen in der Menge der gebildeten Säure. Die weißen wie die mit Fuchsinglanz wachsenden Colikolonien spalteten die Glucose ungefähr gleich stark.

Abwechslungsreicher ist das Verhalten der aus den täglichen Stuhlproben isolierten Colikolonien der Saccharose gegenüber.

Tabelle 6 gibt Aufschluß über die Zahl der in Tabelle 4 angeführten Colistämme, die die Saccharose spalteten bzw. nicht spalteten.

Tabelle 6.

Säugling	auf Endo **rot** gewachsen		auf Endo **weiß** gewachsen	
	Sacch. gespalten	Sacch. nicht gesp.	Sacch. gespalten	Sacch. nicht gesp.
I. K.P	2	7	2	1
II. M.H.	7	7	0	1
III. I.L.	4	5	9	0
IV. H.G.	1	4	0	2
V. A.B.	0	5	0	2
VI. E.S.	1	4	0	1
VII. H.M.	0	5	—	—

Die größere Anzahl der mit Fuchsinglanz bzw. weiß wachsenden Colistämme spalteten Saccharose nicht. Nur die weiß gewachsenen Colistämme des Säuglings III, der neben Säuremilch noch Obst und Gemüse als Nahrung erhielt, bauten alle die Saccharose zu Säure ab. Hierbei fällt auf, daß die weiß gewachsenen Colistämme des Säuglings III am ersten Tag die Saccharose bedeutend weniger spalteten als die mit Fuchsinglanz gewachsenen, ebenfalls Saccharose spaltenden, analogen Colistämme. Bereits am dritten Tag ist die fermentative Hemmung weitgehend beseitigt.

Die Lactose wurde, wie die Glucose, von allen mit Fuchsinglanz bzw. weiß wachsenden Colistämmen ziemlich stark gespalten. Auch hier, wie bei der Saccharose, fällt auf, daß die weißen gegenüber den mit Fuchsinglanz gewachsenen Colistämmen in den ersten 24 Stunden die Lactose bedeutend weniger zu Säure abzubauen ver-

mögen; sie verhalten sich demnach der Lactose gegenüber fermentschwächer als die roten, mit Fuchsinglanz gewachsenen Colistämme. Die Säurewerte des siebs en Tages sind dagegen für beide Coliarten wieder gleich hoch.

Die Kontrollen (Peptonlösungen) wurden durch die Colistämme unter Bildung basischer Substanzen gespalten, allerdings auch nicht gleichmäßig. Die Stärke der Peptonspaltung verläuft analog der Spaltung von Glucose bzw. Lactose.

IV. Zusammenfassung.

1. Aus den Stühlen gesunder, künstlich ernährter Säuglinge wurden auf Endo mit Fuchsinglanz bzw. weiß wachsende Colistämme isoliert, und ihre Fähigkeit, Glucose, Saccharose und Lactose unter Säurebildung zu spalten, untersucht.

2. Durch ein geeignetes Tritationsverfahren konnten die hierbei gebildeten Säuremengen quantitativ bestimmt werden. Als Lösungen wurden n/25 Natronlauge bzw. n/25 Schwefelsäure und ein Methylrot-Methylenblau-Mischindikator verwendet.

3. Durch dieses Titrationsverfahren wurde gezeigt, daß die aus demselben Stuhl auf derselben Endoplatte mit Fuchsinglanz bzw. weiß gewachsenen Colikolonien teilweise dasselbe Kohlehydrat in einer Peptonlösung unter Säurebildung spalteten, teilweise unberührt ließen — vor allem die Saccharose. Demnach sind in demselben Stuhl verschiedene auf Endo mit Fuchsinglanz und verschiedene weiß wachsende Colistämme enthalten.

4. Die Intensität der Säurebildung als Ausdruck der Wirksamkeit kohlehydratspaltender Fermente der Colibakterien war für den größten Teil der untersuchten auf Endo rot bzw. weiß wachsenden Kolonien annähernd gleich stark. Bei dem Rest zeigten sich Schwankungen.

5. Die Kohlehydratspaltung führte am ersten Tag zur größten Säurebildung. Diese Säuremenge nahm weiter bis zum dritten Tag zu, um in den nächsten vier Tagn nur noch wenig anzusteigen.

6. Die Colistämme desselben Kindes, die eine Zeitlang aus täglich entnommenen Stuhlproben von 7 Säuglingen isoliert wurden, ergaben keine konstanten Säurewerte bei der Spaltung desselben Kohlehydrats. Auch hier waren in den Stuhlproben unregelmäßig mit Fuchsinglanz bzw. weiß wachsede Colistämme enthalten, die einmal Saccharose spalteten, das andere Mal nicht. Der Saccharose- wie Lactose-Abbau der weiß gewachsenen Colistämme war gegenüber dem der roten, mit Fuchsinglanz gewachsenen Stämme am ersten Tag bedeutend geringer.

7. Auffällig ist, daß aus allen Stuhlproben des Säuglings III, der im Gegensatz zu allen anderen Säuglingen neben Milch noch Obst und Gemüse als Nahrung erhielt, stets weiße Colistämme neben roten auf der Endoplatte gezüchtet wurden, und daß diese weißen Colistämme Saccharose bzw. Lactose in den ersten 24 Stunden weniger spalteten als die analogen rot gewachsenen Colistämme.

Diese Arbeit zeigte, daß ein Stuhl desselben Säuglings gleichzeitig verschiedene Colistämme enthalten muß. Die kohlehydratspaltenden Fermente der verschiedenen Colistämme katalysieren die Kohlehydratspaltung desselben Kohlehydrats verschieden stark.

Die Leistungen desselben kohlehydratspaltenden Fermentes müssen, wie der Hauptversuch zeigte, zu verschiedenen Zeiten verschieden stark sein. Inwieweit die Umweltbidingungen der Colibakterien diese Fermente in ihrer Wirksamkeit beeinflussen, müßte noch eingehend untersucht werden.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Professor Dr. Selter für die Liebenswürdigkeit danken, daß ich meine Untersuchungen in seinem Institut durchführen konnte, sowie für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte; ferner danke ich Herrn Dr. Leinbrock für die Überlassung des Themas und seine freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und Herrn Dr. Nagel für die Übernahme des Referates.

LITERATUR.

Adam (1923): Jb. f. Kdhlk .101, 295.
Bergey (1923): Manual of determ. Bact.
Bernheim-Karrer (1923): Mschr. f. Kdhlk. 25.
Burri u. Andrejew (1910): Zbl. f. Bact. I Orig. 56, 217.
Busson (1911): Ebenda 58, 505.
Castellani u. Chalmers (1919)) Ann. Inst. Pasteur 34, 600.
Clark u. Lubs (1915): Journ. of inf. Dis. 17, 110.
Conradi u. Bierast (1913): Hdb. d. path. Mikroorgan. Bd. 6.
Durham (1901): J. exper. Med. 5, 353.
Escherich (1886): Die Darmbakterien des Säuglings.
Gerber (1938): Zbl. f. Bact. I Orig. 141, 80.
Gilbert (1895): Sem. médic. 3, 1.
Györgi (1920): Zbl. f. Bact. I Orig. 84, 321.
Haibe (1911): Zbl. f. Bact. Ref. 51, 25.
Hajna (1937): J. Bact. 33, 339.
Haupt (1936): Ergebn. d. Hyg.
Jaffé (1912): Arch. f. Hyg. 76, 145.
Kristensen, Bojlén u. Kjaer (1935): Zbl. f. Bact. I Orig. 134, 318.
Kruse (1910): Allg. Mrikrobiologie.
Löwenberg (1926): Klin. Wschr. 13.
Nißle (1929): Kolle-Kraus-Uhlenhuth: Hdb. d. path. Mikroorgan. Bd. 6 I, 415.
Flonsker u. Rosenbaum (1925): Jb. f. Kdhlk. 109.
Prell (1917): Zbl. f. Bact. I Orig. 79, 324.
Pröscher (1900): Zbl. f. phys. Chem. 31.
Reichenbach (1930): Arch. f. Mikrobiol. 1, 165.
Ressel (1908): zit. n. Nißle: Hdb. d. path. Mikroorgan. Bd. 6 I. 415.
Scheer (1922): Bioch. Zschr. 130.
Staberow (1938): Zbl. f. Bact. I Orig. 141, 130.
Standfuß (1929): Dt. tierärztl. Wschr.
Tavel u. Lanz (1894): Mitt. a. Klin. u. Med. Inst. d. Schweiz I, 1.
Voges u. Proskauer (1898): Zschr. f. Hyg. 28, 20.
West (1909): Amer. J. publ. Hyg. 19, 227.

Tabe

Aus Glucose bzw. Saccharose bzw. Lactose gebildete ccm n/25 Säu

nach 1, 3, 7 Tagen

Name	Stuhl vom	Nr.	Glucose (S.) rot 1 T	3 T	7 T	weiß 1 T	3 T	7 T	Saccharoe (S.) rot 1 T	3 T	7 T	weiß 1 T	3 T
I.	1.8.	a	2.66	3.21	3.48				2.59	2.97	3.11		
K.P.	2.8	b	2.87	4.26	4.37				1.02	3.86	4.27		
	3.8.	c	2.62	3.39	3.74				keine Säure				
	4.8	d	2.64	3.33	3.72				2.39	3.55	3.51		
	5.8.	e	2.39	3.14	3.78				1.68	3.38	3.89		
	7.8.	f	2.34	3.28	3.53	2.50	3.53	3.70	keine Säure			keine	Säure
	8.8.	g	2.15	3.07	3.49				keine Säure				
	9.8.	h	2.33	3.34	3.52				keine Säure				
	10.8.	i	2.35	3.34	3.43	1.58	1.63	2.85	1.59	3.16	3.59	1.56	2.3
	11.8.	k	2.76	3.27	3.99				2.50	2.66	3.30		
	12.8.	l	2.37	2.84	3.23				keine Säure				
	14.8.	m	2.27	3.22	3.36				keine Säure				
	16.8	n	2.41	3.25	3.40				keine Säure				
	17.8.	o	2.10	2.85	3.26	2.07	2.61	3.00	2.10	2.87	3.29	2.12	2.8
II.	5.8	a	2.02	3.34	3.37				1.65	2.56	2.72		
M.H.	7.8	b	1.93	3.09	3.73				1.86	2.99	3.63		
	8.8.	c	2.44	3.45	3.96				1.40	2.01	2.59		
	9.8.	d	2.36	3.00	3.54				keine Säure				
	10.8.	e	2.91	3.11	3.54				2.42	2.94	3.53		
	11.8.	f	2.45	2.55	2.85				2.43	2.65	2.86		
	12.8	g	2.77	3.25	3.25				keine Säure				
	14.8.	h	1.18	2.05	2.68				0.98	2.26	2.92		
	15.8.	i	2.57	3.18	3.33				keine Säure				
	16.8.	k	2.30	3.03	3.40	2.38	3.13	3.58	keine Säure			keine	Säure
	17.8.	l	2.04	2.71	3.00				2.00	2.76	3.17		
	21.8.	m	2.37	3.25	3.48				keine Surre				
	22.8.	n	2.37	3.06	3.36				keine Säure				
	23.8.	o	2.31	3.11	3.50				keine Säure				
III.	8.8.	a	2.38	3.47	3.95	2.32	2.85	3.23	1.35	2.24	3.04	1.13	1.9
I.L.	9.8.	b	2.13	3.10	3.65	2.36	2.96	3.52	keine Säure			1.09	1.8
	10.8.	c	2.41	2.76	3.06	2.36	3.10	3.79	keine Säure			1.54	1.6
	11.8.	d	2.43	3.24	3.69	2.46	2.90	3.39	keine Säure			1.08	1.6
	12.8.	e	2.37	3.35	3.39	2.59	2.88	3.37	keine Säure			1.45	2.1
	15.8.	f	2.28	3.09	3.43	2.28	2.77	3.24	1.17	1.30	2.65	1.14	1.6
	16.8.	g	2.27	2.76	3.66	2.12	2.77	3.19	kein Säure			0.71	1.8
	21.8.	i	2.14	2.98	3.16	2.04	2.75	3.27	1.05	1.58	2.15	0.60	1.5
	22.8.	k	1.96	2.73	2.99	2.25	2 83	3.57	1.52	2.09	2.25	0.53	1.9
IV.	21.9.	a	2.05	3.16	3.41	2.02	3.17	3.74	keine Säure			keine	Säure
H.G.	22.9	b	2.11	2.69	3.21				kein Säure				
	23.9.	c	2.17	2.98	3.43	2.11	3.36	3.64	2.20	3.07	3.55	keine	Säu
	24.9.	d	2.11	2.92	3.37				keine Säure				
	25.9.	e	2.03	2.85	3.13				keine Säure				
V.	21.9.	a	2.07	2.88	3.59	2.25	3.14	3.86	keine Säure			keine	Säure
A.B.	22.9.	b	2.13	3.08	3.42				keine Säure				
	23.9.	c	2.02	2.99	3.29	2.07	3.39	3.55	keine Säure			keine	Säure
	24.9.	d	1.97	2.98	3.43				keine Säure				
	25.9.	e	2.22	3.11	3.31				keine Säure				
VI.	21.9.	a	1.85	2.72	3.08				1.94	2.66	2.99		
E.S.	23.9.	b	2.14	3.10	3.41	2.08	3.05	3.51	keine Säure			keine	Säure
	24.9.	c	2.16	3.21	3.60				keine Säure				
	25.9.	d	2.32	3.22	3.92				keine Säure				
	26.9.	e	2.33	3.09	3.25				keine Säure				
VII.	24.9.	a	1.68	2.15	3.18				keine Säure				
H.M.	25.9.	b	2.01	2.86	3.11				keine Säure				
	26.9.	c	1.75	2.74	3.00				keine Säure				
	27.9.	d	2.08	2.91	3.18				keine Säure				
	28.9.	e	2.30	2.98	3.26				keine Säure				

l e 4

e (S) bzw. aus Pepton gebildete ccm n/25 basische Substanz (B)
ei 37° Bebrütung.

	Lactose (S.)						Kontrolle (B.)						Stuhl
	rot			weiß			rot			weiß			
7 T	1 T	3 T	7 T	1 T	3 T	7 T	1 T	3 T	7 T	1 T	3 T	7 T	Nr.
	2.38	2.80	2.90				0.88	1.21	1.57				a
	2.47	3.28	3.67				0.77	1.29	1.47				b
	2.38	3.21	3.58				0.61	1.16	1.39				c
	2.39	3.16	3.24				0.70	1.26	1.44				d
	2.24	3.01	3.42				0.50	0.97	1.25				e
	2.25	3.11	3.01	2.42	3.20	2.95	0.56	1.02	1.33	0.51	1.04	1.30	f
	2.14	2.72	3.27				0.36	0.65	1.32				g
	2.13	2.92	3.10				0.36	1.11	1.35				h
2.86	2.15	2.82	3.05	1.61	1.62	2 02	0.42	1.09	1.35	0.20	1.00	1.45	i
	2.60	3.01	3.67				1.05	1.49	2.17				k
	2.12	2.67	2.93				0.56	0.89	1.11				l
	2.09	2.74	2.91				0,54	1.25	1.31				m
	2.26	3.04	3.04				0.67	1.12	1.19				n
3.08	1.96	2.78	3.23	1.97	2.59	2.95	0.28	0.95	1.44	0.38	0.84	1.27	o
	1.86	2.78	3.35				0.53	1.19	1.24				a
	1.84	2.49	3.03				0.25	0.59	1.47				b
	2.29	3.31	3.74				0.63	1.07	1.56				c
	2.00	2.18	2.45				0.21	0.88	1.54				d
	1.88	2.38	2.44				0.84	1.10	1.40				e
	1.90	2.37	2.41				0.31	0.67	0.92				f
	2.50	2.76	3.02				0.87	1.11	1.29				g
	0.98	2.33	2.48				0.30	0.63	1.07				h
	2.40	2.81	3.03				0.89	1.25	1.38				i
	2.13	2.62	3.05	2.27	2.73	2.89	0.73	1.04	1.39	0.75	1.06	1.36	k
	1.92	2.44	2.80				0.34	0.63	1.10				l
	2.10	2.76	3.00				0.73	1.20	1.50				m
	2.17	2.86	2.86				0.73	1.14	1.43				n
	2.10	2.75	2.92				0.70	1.15	1.47				o
2.45	1.80	2.58	2.96	0.82	2.92	3.31	0.43	1.05	1.57	0.51	0.65	1.20	a
2.18	1.86	2.64	3.27	0.70	1.34	3.23	0.45	1.03	1.58	0.43	0.77	1.36	b
1.98	2.02	2.60	2.76	1.63	3.11	3.04	0.48	0.82	1.16	0.51	0.75	1.09	c
1.79	2 01	2.87	3.14	1.93	2.79	3.03	0.58	1.17	1.57	0.58	0.79	1.15	d
2.39	2.06	2.89	3.04	1.24	2 66	2.87	0.63	1.22	1.41	0.72	0.88	1.39	e
2.26	1.86	2.43	2.70	0.53	1.65	2.76	0.47	1.20	1.41	0.48	0.95	1.29	f
2.53	2.00	2.43	2.31	0.87	1.90	2.65	0.67	0 85	1.54	0.49	0 85	1.25	g
2.12	1.66	2.46	2.50	0.91	2.58	2.93	0.50	1.05	1.25	0.46	0.84	1.30	i
2.31	1.82	2.29	2.52	1.07	2.68	3.46	0.47	0.74	0.98	0.55	0.78	1.52	k
	1.99	2.70	2.97	0.13	2.19	2.59	0.54	0.91	1.20	0.60	1.23	1.75	a
	2.02	2.43	2.80				0.49	0.80	1.14				b
	2.27	2.96	3.42	1.38	2.60	2.95	0.29	0.91	1.44	0.63	1.37	1.68	c
	1.89	2.53	2.96				0.63	1.03	1.42				d
	2.01	2.56	2.81				0.43	0.88	1.17				e
	1.94	2.59	3.03	0.10	1.95	3.16	0.62	1.14	1.53	0.62	1.17	1.72	a
	2.14	2.91	3.25				0.63	1.08	1.41				b
	1.95	2.51	2.87	0.05	2.13	2.70	0.48	0.89	1.25	0.53	1.27	1.52	c
	1.89	2.56	2.81				0.62	1.18	1.55				d
	2.15	2.83	3.03				0.67	1.10	1.31				e
	1.83	2.32	2.66				0.30	0.60	1.04				a
	1.82	2.41	2.66	1.67	2.17	2.68	0.56	1.15	1.45	0.54	1.09	1.53	b
	2.06	2.76	3.24				0.63	1.13	1.65				c
	2.03	2.64	3.32				0.89	1.48	2.17				d
	2.16	2.70	2.91				0.72	1.18	1.37				e
	1.80	2.52	2.87				0.42	0.96	1.45				a
	1.84	2.48	2.70				0.44	0.84	1.09				b
	1.68	2.57	2.81				0.38	0.93	1.21				c
	1.84	2.17	2.62				0.56	0.89	1.08				d
	2.15	2.62	2.79				0.75	1.08	1.36				e

LEBENSLAUF.

Am 12. Dezember 1914 wurde ich, Günther Hahn, als Sohn des Apothekers Carl Hahn und seiner Ehefrau Thea, geb. Nolte, in Leichlingen (Rhld.) geboren. Dort besuchte ich die Volks- und Mittelschule; am Reformrealgymnasium zu Opladen bestand ich im Frühjahr 1933 das Abitur.

Meine medizinischen Studiensemester verbrachte ich in Marburg, München und Bonn. In Marburg bestand ich 1934 das medizinische Vorexamen, I. Teil, in Bonn 1936 das Vorexamen, II. Teil und das medizinische Staatsexamen ebenfalls in Bonn im Sommersemester 1939.